落花生種間雜種生殖特性與結莢促進

胡澤寬

國立中興大學農藝學系

摘　要：本試驗以落花生栽培種（*Arachis hypogaea*）台南選 9 號（TNS 9）或台南 11 號（TN11）和野生種落花生 *A. villosa*、*A. cardenasii*、*A. batizocoi* 及 *A. pusilla* 為親本雜交所得到的 TNS9 × *A. villosa*、TN11 × *A. cardenasii*、TN11 × *A. batizocoi* 及 TN11 × *A. pusilla* 等雜種 F_1 扦插苗為材料，探討其生殖特性及結莢促進方法。結果如下：

1.各雜交組合花粉粒的體積大小差異頗大，四分子期小孢子細胞群以二分子體的數目較多，可知四個雜交組合的三倍體雜種均能產生高比例的未減數花粉。

2.四個雜交組合 F_1 之花粉充實率約在 40～67% 之間，因雜交組合不同而有差異，TN11 × *A. batizocoi* 組合之充實率高於其他雜交組合。季節間之表現因雜交組合不同而異，冬季充實率略低於其他季節。

3.花粉萌發率亦因季節與雜交組合不同而異，TN11 × *A. cardenasii* 之萌發率高於其他組合，冬季花粉萌發率顯著低於春、秋二季。

4.花粉管通常於授粉後 24 小時可順利抵達胚珠，不同雜交組合之受精比率介於 51～79 %，季節間則無顯著差異。

5. 種植於田間之子房柄雖較種植於溫室者為低，但田間有較高的結莢數，春季之子房柄及莢果數均高於秋季。在雜交組合間，除 TNS9 × *A. villosa* 的子房柄數高於其他組合外，其他雜交組合在子房柄形成及莢果數上則無顯著差異。

6. TNS9 x A. villosa 之半年或一年生 F_1 植株於開花期間經 GA_3 處理，顯著地題提高子房柄形成及結莢數。

關鍵詞：花生、種間雜種、花粉形成、生殖特性

The Reproductive Characteristics and Promotion of Pod Set in the Interspecific Hybrids of *Arachis*

Tzer-Kaun Hu

Agronomy Department, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan, R.O.C.

Abstract:

Four triploid hybrids between *Arachis hypogaea* (TNS 9 or TN11) and four wild species (*A. villosa*, *A. cardenasii*, *A. batizocoi*, and *A. pusilla*) were used as materials to investigate the reproductive characteristics, environmental effects on fertility and to discuss the improved method. The results were summarized as follows:

1. The sizes of pollen grain showed a large range in all crosses. The higher number of dyad observed at tetrad stage revealed that all four crosses may produce the high frequency of unreduced gamete.
2. The pollen fertility was different among crosses and ranged from 40 to 60 %, and the highest pollen fertility was observed in the hybrid of TN11 x *A. batizocoi*. The pollen fertility in winter was lower than in other seasons.
3. The germinated rate of pollen was different according as the planted season and crosses. The germinated rate in hybrids of TN11 x *A. cardenasii* was higher than the other crosses, and in winter was significantly lower than in spring and fall.
4. Pollen tube had commonly elongated into ovules at the 24 hours after pollination. The percentage of fertilization was ranged from 51% to 79% for all crosses, but had not influenced by the planted season.
5. Since triploid hybrids planted at field produced a lower number of peg, the pod number at field is higher than at greenhouse. However, The peg and pod number in spring is higher than in fall. Except TNS9 x *A. villosa* produced the more pegs, the peg and pod number was not significantly different among crosses.
6. The treatment of GA_3 significantly increased the peg and pod number of the half- and one-year cutting hybrids of TNS9 x *A. villosa*.

Key words: *Arachis* , Interspecific hybridization , Pollen formation , Reproductive characteristics

前　言

花生屬（*Arachis*）包括栽培種（*Arachis hypogaea* L., 2n＝4x＝40）及一些野生種，其中野生種大多為二倍體（2n＝2x＝20）。由於二倍體花生具有耐不良環境、抗蟲、含高油份及高蛋白等優良農藝性狀（Harlan, 1976；Stalker and Moss, 1987；黃等 1996），在抗病及抗蟲育種上已廣為利用（Gardner and Stalker, 1983；Gouk *et al.*, 1986；Stalker, 1984）。台灣落花生的品種改良向來均以型間雜交為主，在產量方面雖已有顯著成果，但在抗病及抗蟲育種上則尚未有具體成效。

利用種間雜交方法導入野生種優良性狀時，因雜交不親和性及後代不稔性限制了野生種材料之利用性（Bajaj *et al.*, 1982；Halward and Stalker, 1987a,b）。就落花生而言，授粉時噴施 GA_3、授粉後噴施其他生長素及利用子房柄或未熟胚培養等方法均可克服種間雜交不親和性，而獲得雜交種子（Sastri and Moss, 1982；Moss and Stalker, 1987；Ozias-Akins *et al.*, 1992；周等, 1994；洪, 1998）。以台灣推廣品種與野生種雜交，已得到數個組合之種間雜種 F_1，經扦插繁殖後均可得到少數種子（郭 1998）。另外，種間三倍體雜種的稔實性除了因雜交父母不同而異外，也受日照及溫度極大的影響（Singh and Moss, 1984a；唐等, 1994）。

種間三倍體雜種通常具有不稔性，一般多以 colchicine 倍加成可稔之六倍體（Stalker and Wynne, 1979），但其後代變異性少較不適宜育種選拔（Stalker, 1984）。在馬玲薯、苜蓿、三葉草、狼尾草等作物已陸續發現未減數配子（unreduced gamate；2n），除了在演化上扮演重要角色外，在育種上可利用來取代秋水仙素，可轉移較高異質結合性至子代，為多倍體作物改良上極有利之模式（Hanlan and deWest, 1975；成及羅, 1987；Jongedijk *et al.,* 1991a；Tavoletti, 1991）。花生可稔種間雜種已在若干雜交組合中被發現，由細胞學之觀察結果證實其花粉母細胞可產生高比率之二倍性，甚至三倍性花粉（Singh and Moss, 1984a,b；Simpson and Davis, 1983）。Stalker and Moss（1987）及 Simpson（1991）對於花生種間雜交曾提出六倍體、三倍體、複二倍體及同源四倍體等多種倍數操作途徑，唐等（1994）指出花生種間雜交三倍體雜種自然倍加後代呈現豐富的優良組合及變異，在 F_5 世代即能分離出株型直立的株系，為利用野生種改良栽培種時極具前景之途徑。因此本試驗將探討數個花生種間雜種 F_1 在不同栽培環境下的花粉形成、花粉發芽、授粉作用及結莢等生殖特性，並尋求其改善方法，作為往後花生遺傳育種研究之參考。

材料與方法

本試驗以栽培種落花生（*Arachis hypogaea*）台南選 9 號（TNS9）及台南 11 號（TN11）為母本與野生種落花生 *A. villosa*、*A. cardenasii*、*A. batizocoi* 及 *A. pusilla*(親

本特性如表 1)雜交所產生的 TNS9 × *A. villosa*、TN11 × *A. cardenasii*、TN11 × *A. batizocoi* 及 TN11 × *A. pusilla* 等雜種 F_1 扦插苗為材料。

Table 1. The genome and chromosome number (2n) of the male and female parents for interspecific hybridization of peanut.

Peanut	Genome	Chromosome No.（2n）
A. hypogaea（TNS9）	A、B	40
A. hypogaea（TN11）	A、B	40
A. villosa	A_2	20
A. cardenasii	A_2	20
A. batizocoi	B	20
A. pusilla	T	20

一、雜種 F_1 花粉形成之細胞學觀察

於清晨 7：00—9：30，選取 2~3mm 的花蕾為材料，固定於 Farmer 氏溶液（95% 乙醇：冰醋酸＝v/v＝3：1）中 24 小時，以解剖針挑出花藥搗碎後以 aceto-carmine 染色，於顯微鏡下觀察四分子期之花粉母細胞分裂情形。

二、充實花粉之測定

於清晨 7：00—8：00 取自 15 朵當天開花之花粉，置於載玻片上以 aceto-carmine 染色後，在顯微鏡下觀察花粉形態並測量種間雜種 F_1 充實花粉粒大小，各組合平均調查 1400 顆花粉粒並計算充實花粉佔花粉粒總數之百分比，再以 NikonUFX—DX 自動照相系統拍照記錄之。

三、花粉萌發率之測定

於清晨 7：00～8：00 取自 15 朵當天開花之花粉，即刻撒播於人工萌發床（將含 4% 蔗糖及 1ppm GA_3 之 MS 培養液滴於載玻片上）。在 30℃下培養 30 分鐘後於顯微鏡下計算花粉萌發數佔總花粉數之百分比。

四、花粉管伸長之觀察

將授粉後 24 小時含子房之雌蕊以 FAA 溶液（福馬林：冰醋酸：70% 乙醇＝v/v＝1：1：18）固定 24 小時，再以 1N 的 NaOH 溶液於 60℃下軟化 30 分鐘，以蒸餾水漂洗三次，復經 0.1% Aniline blue 螢光染劑預染 3 小時。以鑷子將子房取出至於載玻片上，於 15 倍放大鏡下用解剖刀將子房輕輕割開，使子房分割為兩半，最後放一滴 aceto-carmine 加蓋玻片輕壓。利用螢光顯微鏡（Nikon Optiphot fluorescence microscope，Dichroic mirror 455nm）觀察花粉管伸長之情形，並以 NikonUFX—DX 自動照相系統

拍照記錄之。

五、種間雜種 F_1 子房柄形成與結莢數之變異及改善

(一)雜交組合間之差異

以 TNS9 × *A. villosa*、TN11 × *A. cardenasii* 及 TN11 × *A. batizocoi* 等三個雜交組合之 F_1 扦插苗為材料，88 年秋季種植於直徑 30cm 的塑膠盆中並置於中興大學之溫室，每品種三盆，三重複，分別調查各組合之子房柄形成數、結實數。

(二)不同季節與栽培環境之影響

以 TNS9 × *A. villosa* 之雜種植株扦插苗為材料，分別於 88 年秋季及 89 年春季種植於田間及溫室，種植後 150 天調查子房柄形成及莢果形成數。試驗採 CRD 設計三重複，每重複 4 株。

(三)噴施 GA_3 對種間雜種 F_1 子房柄形成與結莢數之促進效果

以 TNS9 × *A. villosa* 之不同株齡雜種扦插植株為材料，於 89 年春季種植於溫室，於開花期間每隔 3 天噴施 100ppm GA_3，連續處理 60 天，種植後 150 天調查子房柄形成及莢果形成數。試驗採 CRD 設計三重複，每重複 4 株。

Table 2. Frequency of sporads at the tetrad stage of pollen mother cells in triploid interspecific hybrids of peanut

Crosses	Ploidy Level	Frequency (%)					No. of Sporads
		Monads	Dyads	Triads	Tetrads	Pentads	
TNS9 × *A. villosa*	3x	18.34	59.86	10.03	11.76	0.00	578
TN11 × *A. cardenasii*	3x	10.51	75.93	8.64	4.92	0.00	590
TN11 × *A. batizocoi*	3x	0.86	81.03	13.22	4.77	0.12	817
TN11 × *A. pusilla*	3x	22.99	66.11	5.60	5.11	0.20	1018

結　　果

一、 種間雜種 F_1 小孢子細胞群中各分子體之頻度分佈

花粉母細胞可於四分子期時，由其孢子細胞群中各分子體之比例來判別未減數配子的產生，故進一步調查四個雜交組合 F_1 之小孢子群比例結果如表 2 所示。在 TNS9 × *A. villosa* 的四分子期中以二分子體最多為 59.86%，單分子體 18.34 次之，四分子體 11.76 及三分子體 10.03 再次之，而 TN11 × *A. cardenasii* 與 TN11 × *A. pusilla* 兩個雜交組合則有相同的分布頻率，皆以二分子體最多分別為 75.93%、66.11%，單分子體 18.34%、22.99% 居次，三分子體 8.64%、5.6% 再次之，最少為四分子體 4.92% 與 5.11%，且 TN11 × *A. pusilla* 組合尚有 0.2% 的五分子體，在 TN11 × *A. batizocoi* 雜交組合之分布頻度仍以二分子體 81.03% 最高，而在單分子頻度上最低僅 0.86%，整體而言，四個雜交組合

在四分子期時，皆以二分子體的頻度 60～80% 高於其它分子體，可說四個雜交組合產生之花粉以未減數配子居多，而在單分子體上則由 0.86 至 22.99%，又以 TN11 × *A. pusilla* 能產生 4n 花粉的頻度最高，三分子體的分布頻度在 TNS9 × *A. villosa*、TN11 × *A. batizocoi* 兩個雜交組合皆有 10% 以上，TN11 × *A. cardenasii* 約 8.64%，TN11 × *A. pusilla* 最少約 5.6%，正常的四分子體 TNS9 × *A. villosa* 約 11.76%，其他三個以 TN11 為母本之雜交組合則在 5.11% 以下。

二、種間雜種 F_1 之生殖特性

（一）種間雜種之花粉活力

1.花粉充實率

將花粉經 aceto-carmine 染色後觀察其染色效果，染色深且花粉充實飽滿者表示具有活力之花粉，經計算其充實花粉百分比，結果列於表 3 及表 4。由表 3 之結果發現雜交親本之花粉充實率均極高，父本充實率平均在 58.9～97.6% 之間，母本則介於 76.8～95.8%。就種間雜種 F_1 之花粉充實率而言（表 4），所有種間雜交組合雜種 F_1 之充實率約在 40～60% 之間，四個 F_1 在季節間的表現因品種不同而異，TNS9 × *A. villosa* 在 8 月有 61% 的充實率，之後各時期的充實率則介於 37.9～40.2% 之間；TN11 × *A. cardenasii* 在 8 月有 39.8% 的充實率，其它季節則在 48.5～54.7% 之間；TN11 × *A. batizocoi* 則以 2 月的充實率（54.9%）較低外，其餘則在 58.7～66.9% 之間無顯著差異；雜交組合間之比較，於 8 月時 TNS9 × *A. villosa* 與 TN11 × *A. batizocoi* 之可染率介於 61～58.7%，明顯高於 TN11 × *A. cardenasii*；在 11 月及 2 月之可染率則以 TN11 × *A. batizocoi* 顯著高於 TN11 × *A. cardenasii* 及 TNS9 × *A. villosa*；5 月時仍以 TN11 × *A. batizocoi* 最高，TN11 × *A. cardenasii* 及 TN11 × *A. pusilla* 次之，TNS9 × *A. villosa* 最差。

Table 3. Pollen stainability of cultivated(female) and wild(male) peanut observed in different seasons

Species	Percentage (%) February	May	August	$LSD_{0.05}$ (between season)
A. villosa	72.10 ^{b}	76.80 ^{bc}	58.96 ^{c}	14.46
A. cardenasii	95.56 ^{a}	74.88 ^{c}	97.66 ^{a}	7.49
A. batizocoi	92.70 ^{a}	92.57 ^{ab}	89.67 ^{ab}	11.52
A. pusilla	88.08 ^{a}	84.61 ^{bc}	85.02 ^{ab}	21.40
TNS9	-	86.85 ^{ab}	88.80 ^{ab}	12.28
TN11	-	95.83 ^{a}	76.82 ^{b}	3.57

Mean separation between species and season by LSD test, means with different letters are significant at 5% level.

Table 4. Pollen stainability of the interspecific hybrids of peanut observed in different seasons

Crosses	Percentage (%)				LSD 0.05
	February	May	August	November	(Between season)
TNS9 × *A. villosa*	40.23 a	37.93 c	61.04 a	40.16 c	11.30
TN11 × *A. cardenasii*	48.53 a	49.70 b	39.81 b	54.75 b	10.88
TN11 × *A. batizocoi*	54.91 a	66.91 a	58.71 a	65.01 a	8.84
TN11 × *A. pusilla*	-	49.28 b	-	-	-

Mean separation between crosses and season by LSD test, means with different letters are significant at 5% level.

2. 種間雜種 F_1 之花粉粒形態及其大小

比較四個種間雜交組合 F_1 及其親本之花粉形態及大小，結果由圖 1 及圖 2 顯示，四倍體母本 TNS9（圖 1-A）及 TN11（圖 2-A）之花粉粒略大於二倍體父本 *A. villosa*（圖 1-B）、*A. cardenasii*、*A. batizocoi* 及 *A. pusilla* 的花粉粒（圖 2-B～D），四倍體花粉粒約為 0.04mm 而二倍體花粉粒則介於 0.03～0.035 之間，親本花粉粒以圓形居多，少數為卵圓形，至於種間雜交 F_1 之花粉粒大小則有極大之變異（圖 1-C，圖 2-E～G）可明顯看出大小之別， F_1 花粉粒的直徑大小差異頗大。進一步測量種間雜種之花粉粒大小，繪製其直徑大小之分佈如圖 3 所示，發現 TNS9 × *A. villosa* 組合中，其花粉大小的分布以大於 0.05mm 之大花粉最多，約佔 41.89% ，0.04～0.05mm 的花粉佔 34.2% 居次，小於 0.04mm 之花粉則佔 23.87% ，其它以 TN11 為母本之三個 F_1 雜種則皆以 0.04mm～0.05mm 大小之花粉粒最多，約 45.1～79.6% ；其次為大於 0.05mm 之大花粉，分佈頻度為 11～34.7% ；而小於 0.04mm 者則佔 9.6～22.5% ，其中，TN11 × *A. batizocoi* 雜交組合之頻度分佈在 0.04～0.05mm 大小之花粉粒所佔比例高達 79 % 。

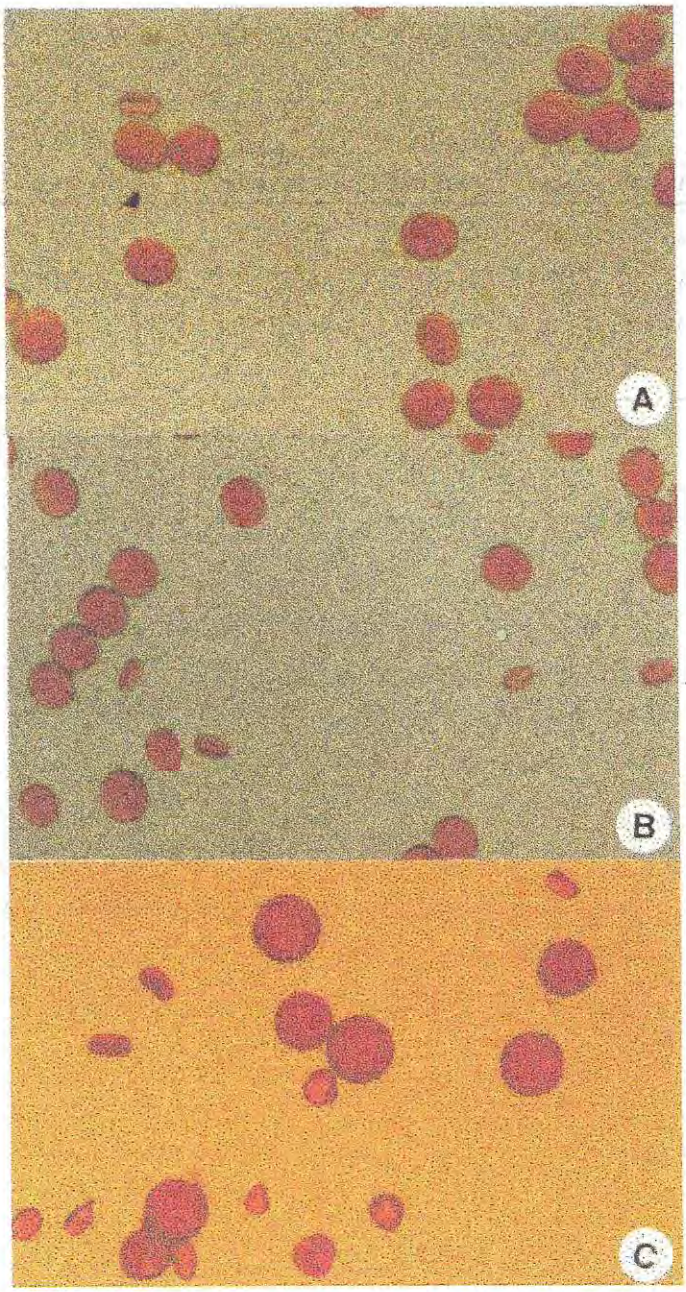

Figure 1. Pollen morphological characters of interspecific hybrids, the male and female parents for interspecific hybridization of TNS9 × *A. villosa.* (all x 400)

A. TNS9 (♀)

B. *A. villosa* (♂)

C. TNS9 × *A. villosa* ,

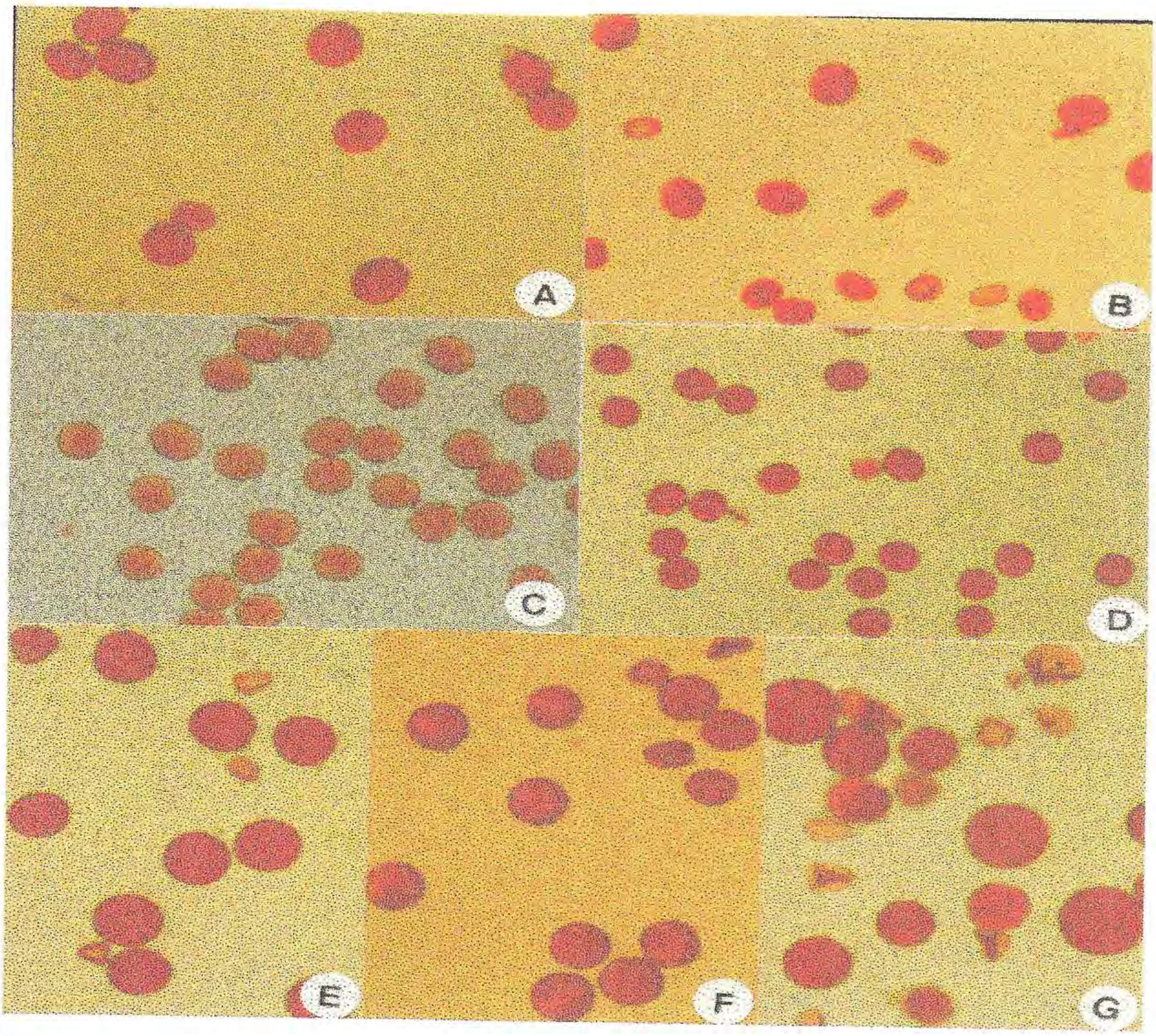

Figure 2. Pollen morphological characters of interspecific hybrids, the male and female parents for interspecific hybridization of peanut. （all x 400）

A. TN11(♀)

B. A. cardenasii(♂)

C. A. batizocoi(♂)

D. A. pusilla(♂)

E. TN11 × *A. cardenasii*

F. TN11 × *A. batizocoi*

G. TN11 × *A. pusilla.*

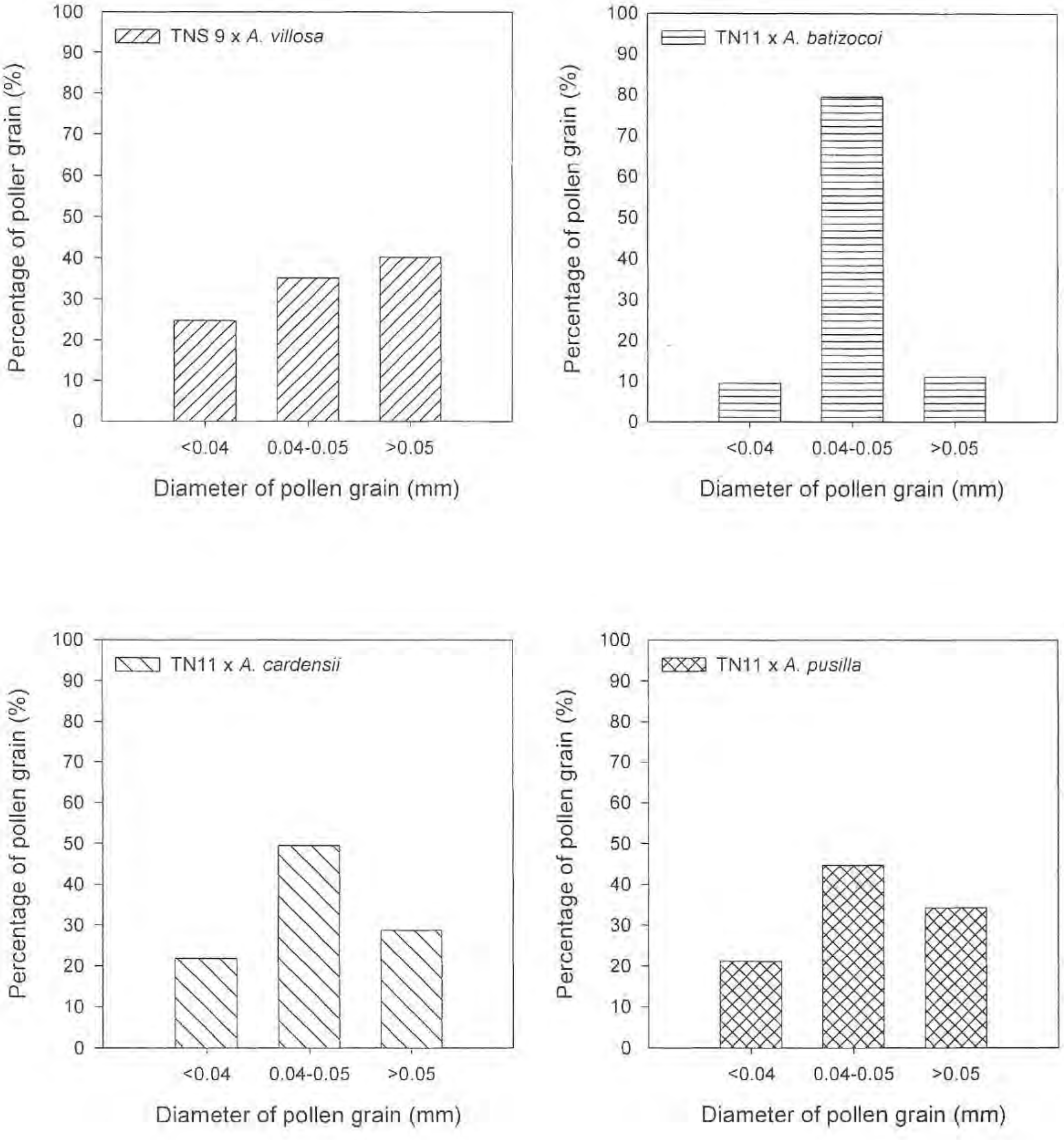

Figure 3. Frequency distribution of pollen size in interspecific hybrids of peanut.

（二）花粉萌發率之比較

取清晨正在開花的花朵，將花粉進行人工萌發，花粉萌發之情形由圖 4 所示。調查花粉萌發數百分比，由表 5 的結果顯示，三個雜種 F_1 在 11 月有較高之花粉萌發率，介於 40.53～52.52% 之間，其中 TN11 × *A. batizocoi* 組合之萌發率顯著高於其他組合。8 月花粉萌發率以 TN11 × *A. cardenasii* 雜交組合較高，為 47.85% ，至於 TNS9 × *A. villosa*、TN11 × *A. batizocoi* 及 TN11 × *A. pusilla* 三個雜交組合之花粉萌發率介於 30.5～21.31% 。2 月的花粉萌發率為所有調查季節中最低，僅有 5.81～10.1% 的萌發率，且各雜種間無顯著差異。

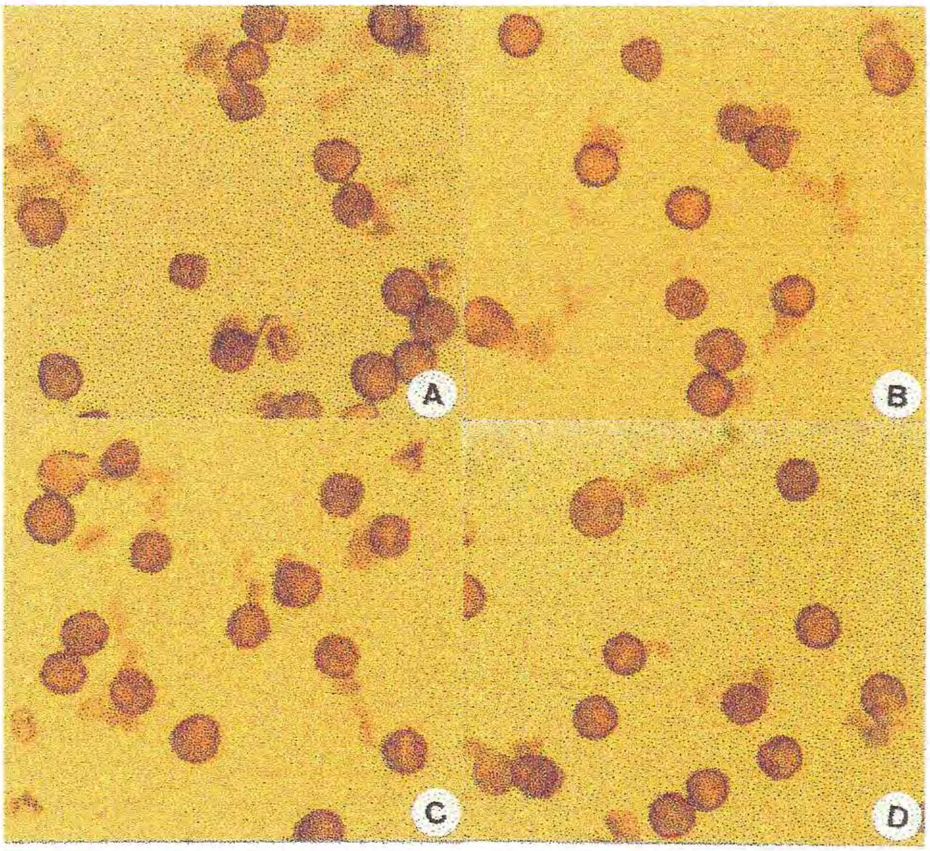

Figure 4. The growth of pollen tube in the interspecific hybrids. (all x 400)

A. TNS9 × *A. villosa.*

B. TN11 × A. cardenasii.

C. TN11 × *A. batizocoi*;

D. TN11 × *A. pusilla*.

Table 5. Pollen germinated rate of the interspecific hybrids of peanut observed in different seasons.

Cross	Percentage (%)			LSD $_{0.05}$
	February	August	November	(Between season)
TNS9 × *A. villosa*	5.81 [b]	21.31 [c]	40.53 [b]	10.96
TN11 × *A. cardenasii*	5.87 [b]	47.85 [a]	49.05 [a]	7.29
TN11 × *A. batizocoi*	10.10 [a]	30.50 [b]	52.52 [a]	8.00
TN11 × *A. pusilla*	-	27.53 [b]	-	-

Mean separation between crosses and season by LSD test, means with different letters are significant at 5% level.

Table 6. The rate of pollen-tube elongation of the interspecific hybrids of peanut observed in different seasons.

Cross	Percentage (%)		LSD $_{0.05}$
	May	November	(Between season)
TNS9 × *A. villosa*	75.27 [a]	65.96 [a]	20.16
TN11 × *A. cardenasii*	78.33 [a]	51.41 [a]	17.49
TN11 × *A. batizocoi*	79.09 [a]	53.47 [a]	17.21
TN11 × *A. pusilla*	74.73 [a]	-	-

Mean separation between crosses and season by LSD test, means with different letters are significant at 5% level.

（三）花粉管伸長之觀察

將自交授粉後 24 小時之胚珠取下，以螢光顯微鏡觀察其花粉管伸長進入胚珠之過程，子房授精情形如圖 5 所示，圖 5-A 為花粉管未進入子房，圖 5-B 為花粉管已進入子房但其胚珠並未受精，圖 5-C～5-F 分別表示 TNS9 × *A. villosa*、TN11 × *A. cardenasii*、TN11 × *A. batizocoi* 及 TN11 × *A. pusilla* 等四個雜交組合的花粉管於授粉 24 小時後已進入子房，胚珠呈螢光反應即表示花粉管已近入胚囊。另由表 6 之結果顯示，所有雜交組合之花粉管伸長進入胚珠的比率在 5 月為 74.73～79.09% ，11 月為 51.41～65.96% ，5 月略高於 11 月，但兩者之間並無顯著差異；無論 5 月或 11 月，花粉管伸長率在雜交組合間均無顯著差異。

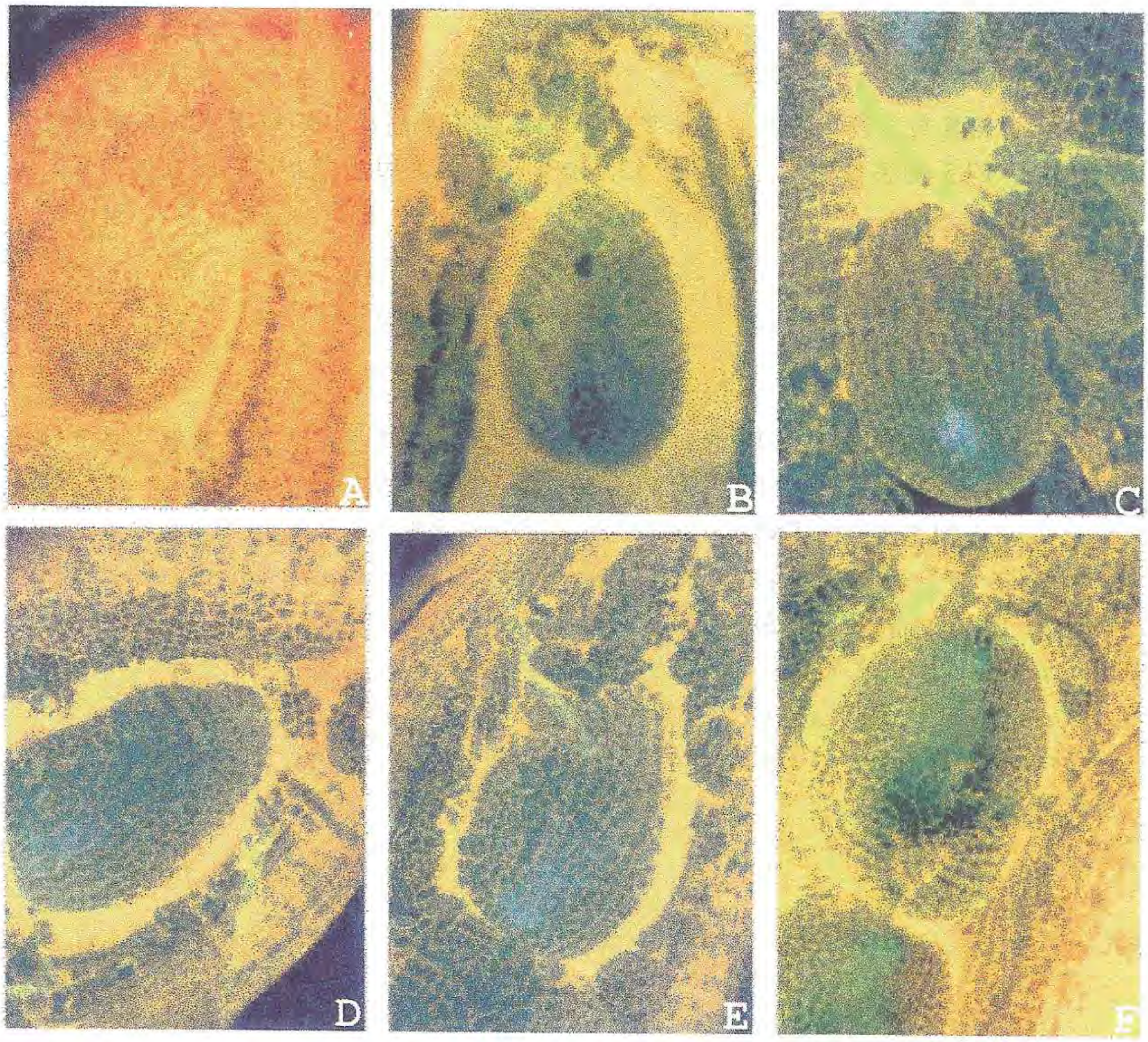

Figure 5. Fluorescence inspection in pollen tube growth in the interspecific hybrids.（all x 100）

A. Unpollinated ovule.

B. Pollinated ovule without fertility.

C-F. Pollen tube have reached ovule in (C) TNS9 × *A. villosa*, (D) TN11 × *A. cardenasii*, (E) TN11 × *A. batizocoi* (F) TN11 × *A. pusilla*.

OV: ovule; PT: pollen tube

（0.1% Aniline blue）

三、種間雜種 F_1 之子房柄形成與結莢數之變異及促進

(一)不同季節與栽培環境的影響

以 TNS9 × *A. villosa* 雜交組合分別比較種植於溫室與田間，以及不同季節之子房柄形成與結莢情形，結果列於表 7。春季種植於田間時，平均每株有 29.8 個子房柄，產生 11.9 個莢果，栽種於溫室植株平均有 45.8 個子房柄及 1.83 個莢果。秋季種植於溫室產生 17.5 個子房柄高於田間之 13.9 個，結莢數在田間與溫室間則無顯著差異，分別為 1.25 與 1.12 個。就春秋兩季之反應而言，種植於春季時平均可獲得 37.8 個子房柄及 6.89 個莢果，高過秋季之子房柄及莢果數。綜合而言，種植於田間之子房柄雖較種植於溫室者為低，但田間有較高的結莢數，春季之子房柄及莢果數均高於秋季。

(二)雜交組合間的差異

比較四個雜交組合之 F_1 於秋季種植於溫室下植株之子房柄及莢果數，結果如表 8 所示。就子房柄數而言，TNS9 × *A. villosa* 有最高的子房柄數平均 17.3 個，TN11 × *A. cardenasii* 則有 8.2 個，TN11 × *A. batizocoi* 平均有 5.8 個子房柄數，TN11 × *A. pusilla* 平均有 0.6 個子房柄數。再就莢果數來看，在 TN11 × *A. cardenasii* 有最多莢果數，平均 2.5 個，TNS9 × *A. villosa* 1.25 個次之，TN11 × *A. batizocoi* 0.75 個，TN11 × *A. pusilla* 最低。整體而言，F_1 雜種之子房柄及莢果形成數在品種間之差異以 TNS9 × *A. villosa* 有最高的子房柄形成，而其他雜交組合間則無顯著差異；在莢果數以 TN11 × *A. cardenasii* 最高，TNS9 × *A. villosa* 次之，TN11 × *A. batizocoi* 再次之，TN11 × *A. pusilla* 則無莢果。

Table 7. Peg and pod number for F_1 hybrid of TNS9 × *Arachis villosa* planted at the greenhouse and field in fall of 1998 and spring of 1999

Season	Location	No. of peg /plant	No. of pod /plant
Spring	Field	29.8^{b}	11.95^{a}
	Greenhouse	45.8^{a}	1.83^{b}
Mean		37.8^{A}	6.89^{A}
Fall	Field	13.9^{b}	1.25^{a}
	Greenhouse	17.5^{a}	1.12^{a}
Mean		15.70^{B}	1.19^{B}

Mean separation between season and location by LSD test, means with different letters are significant at 5% level.

Table 8. Peg and pod number of the interspecific hybrids of peanut planted at the greenhouse in fall of 1998

Crosses	Peg number / plant	Pod number / plant
TNS9 × *A. villosa*	17.33 a	1.25 b
TN11 × *A. cardenasii*	8.17 ab	2.50 a
TN11 × *A. batizocoi*	5.08 b	0.67 b
TN11 × *A. pusilla*	0.60 b	0.00 c

Mean separation between crosses by LSD test, means with different letters are significant at 5% level.

(三)噴施 GA_3 對子房柄形成與結莢數之促進效果

以 TNS9 × *A. villosa* 之不同株齡雜種扦插植株為材料，於開花期間每隔 3 天噴施 100ppm GA_3 處理子房柄基部，連續處理 60 天，種植後 150 天調查對照及 GA_3 處理的子房柄及莢果形成數(結果如表 9 所示)。發現雜種扦插植株之子房柄及莢果形成數隨株齡增加而有下降的趨勢。GA_3 處理對種間雜種之子房柄及莢果形成均有顯著的促進效果，尤其是一年生種間雜種植株經 GA_3 處理後之子房柄形成數比對照植株增加約 10 倍。

Table 9. Effect of GA_3 on peg and pod formation of interspecific hybrid (TN11 x *A. villosa*) planted at the greenhouse in spring of 2000.

	No. of peg /plant			No. of pod /plant		
Plant age	Check	GA_3	$LSD_{0.05}$	Check	GA_3	$LSD_{0.05}$
0.5 year	45.80 [a]	148.30 [a]	25.65	1.83 [a]	3.33 [a]	1.13
1 year	8.42 [b]	92.97 [b]	20.01	0.42 [b]	1.39 [b]	0.72

Mean separation between treatment and plant age by LSD test, means with different letters are significant at 5% level.

討　論

野生種花生為栽培種的近緣種，其中某些種質(germplasm)對於危害花生的病害、蟲害具有高抗性或免疫的程度(黃等 1996)，可改良栽培種之抗病及抗蟲性。由於栽培種為異質四倍體，其染色體組為 AABB，通常與栽培種屬於同節之野生種多能與栽

培種雜交形成三倍性雜種（Smartt *et al.,* 1978），三倍體種間雜種由於染色體組的不親和性，在一般情況下是不稔的。Smartt and Gregory（1967）及 Simpson and Davis（1983）均曾報導由三倍體植株上收到少量因自然倍加而產生的種子，Singh and Moss（1984b）進一步發現栽培種與 7 個 A 染色體組及 1 個 B 染色體組之野生種雜交的種間雜種 F_1 在英國均無法產生子房柄與莢果，但所有雜交組合經扦插繁殖且移至印度後均能形成子房柄且獲得飽滿的種子。本試驗觀察台灣推廣品種 TN11 與 *A. villosa*（A 染色體組）、*A. cardenasii*（A 染色體組）、*A. pusilla*（T 染色體組）及 *A. batizocoi*（B 染色體組）雜交 F_1 的根尖細胞染色體數，發現這些種間雜種確為種間雜交三倍體；雖然其實生植株均完全不稔，但在扦插繁殖後，也都能產生子房柄，僅 TN11 × *A. pusilla* 無莢果。雖然花生亞屬中的大多數二倍體野生種都能與栽培種形成三倍性雜種，而三倍體之稔性或結莢率則因雜交父母本不同而有很大差異。Smartt 等（1978a）指出 *Arachis* 節內的野生種與栽培種之核型較為相似，染色體於減數分裂時較易配對。Singh and Moss（1984b）發現以 B 染色體組 *A. batizocoi* 為父本之雜交 F_1 有最佳的結莢率。唐等（1994）發現大陸栽培種與 5 個野生種雜交組合中，除了 A. *batizocoi* 因含特殊 B 染色體組與栽培種不易雜交成功外，其他與 A 染色體組野生種為父本之雜交組合之雜種 F_1 都能產生飽滿的種子。由本試驗表 8 之結果顯示，以 A 染色體組之 *A. villosa* 及 *A. cardenasii* 為父本之 F_1 可形成較多的子房柄及莢果，以 *A. batizcoi* 為父本之 F_1 的子房柄及莢果形成率次之，至於 T 染色體組為父本之 F_1 雖然可產 0～1 個子房柄，但無法獲得莢果。

Harlan and deWest（1975）曾列出 85 屬能產生二倍性花粉之植物，未減數配子在多倍體作物演化及育種上扮演相當重要的角色；氏等提出被子植物多倍體是源自於未減數花粉之結合，而非體細胞染色體之自然加倍，其他研究者進一步認為四倍體是由兩性所產生之二倍性配子組合而成（Den Nus and Peloquin, 1977）。在種質轉移上，由較低倍數轉至較高倍數體時，2n 配子是一種可取代秋水仙素倍加處理的有效模式，其中 FDR 2n 配子具有可轉移高度異質結合的能力。Jongedijk 等（1991）及 Ortiz and Peloquin(1994)指出馬鈴薯的 FDR 2n 花粉可轉移約 80% 的異質結合性及上位性基因，而 SDR 配子約轉移 40% 至子代。Simpson and Davis（1983）亦指出 *Arachis* 三倍性雜種的 30 條染色體可維持三個種（species）中染色體間遺傳交換的機會，可提高等位基因顯性或隱性基因座結合的機會，成為一種將野生種優良特性導入栽培種的有效方法。唐等（1994）亦證實種間雜交三倍體雜種自然倍加後代呈現豐富的優良組合及變異，為利用野生種改良栽培種時極具前景之途徑。一般而言，具有二倍性花粉者其花粉粒亦較大（Ortiz, 1997；Chen *et al*., 1997）。在花生方面，Singh and Moss（1984a）指出減數分裂異常所形成的未減數配子及單倍性配子與可稔之花粉粒有大小之別有一定的關係。Singh and Moss（1984b）指出其三倍體 F_2 子代產生具有 82% 的六倍體、8% 的四倍體及 10% 具 20～59 條染色體，故除了花粉有未減數配子產生外，認為亦有未減數卵的形成。本試驗觀察四個不同雜交組合 F_1 的花粉，發現有許多花粉粒體積明顯大於

親本，且雜種花粉中體積大小變異頗大，其中巨大花粉粒極可能與 2n 花粉形成有關。又觀察四分子期時小孢子細胞群之分佈比率中各組合的確以二分子體分佈比率最高，因此可確知此四個雜交組合均可產生二倍性花粉，至於是否有二倍性卵的產生則仍須進一步觀察其 F_2 子代之染色體分佈頻度。

一般而言種間雜種 F_1 的花粉稔性普遍不高，沈（1994）指出百合種間雜交種由於減數分裂不正常而造成極低的花粉稔性（0～2.3% ）；Singh and Moss（1984b）以四倍體的栽培種花生與數個二倍體野生種雜交所得三倍體 F_1 雜種之花粉充實率在 7～20% 之間；而 Simpson and Davis（1983）則發現花生可稔三倍體雜種花粉充實率在 41～92 % 之間，高於不稔三倍體的 10.5% 。本試驗探討四個種間雜交組合 F_1 雜種之花粉充實率、花粉萌發率及花粉管伸長等特性在季節間之變異。雜交親本之花粉充實率均很高，而四個不同雜交組合雜種 F_1 的充實率則介於 40～60% 之間，因組合與季節的不同而略有差異。此結果與上述前人之結果相似。另外，由花粉萌發率之試驗結果顯示，花粉萌發率亦因品種與季節之不同而異；整體而言，花粉管生長速度極為緩慢，各組合秋季花粉之萌發率略高於夏季，然冬季則受低溫影響，花粉數減少且萌發率明顯降低。黃與賴（1985）指出花生花粉萌發率以生長於 30℃／25℃植株之花粉培養後萌發率最高，20℃／15℃植株之萌發率最低，花粉萌發率受植株生長之環境溫度所影響。成與羅（1987）在狼尾草雜種之研究中亦指出，在冬季低溫時花粉率、花葯之開裂及花粉萌發數皆低。本試驗進一步以螢光顯微鏡觀察的授粉情形，發現授粉後 24 小時各雜交組合間在秋季平均有 56% 的花粉管可達胚珠並完成受精作用，在春季則有 74% 以上的花粉管可完成受精，雜交組合間或季節間並無顯著差異。郭（1998）指出花生雜種 F_1 雖有延遲受精之現象但其受精率並不低，因此授粉作用並非影響稔性之主因。Emery（1983）及唐等（1994）均發現雜種在形成子房柄後，仍經常發生胚敗育現象，有關於雜種胚的發育及其拯救則有待進一步的探討。

三倍性雜種結實性除受遺傳控制外，氣候環境因子如溫度、光照長度等也是重要的影響因素（Stalker and Wynne, 1982；唐 1994）。本試驗比較不同栽培季節與環境對 TNS9 x *A. villosa* 生殖效率之調查結果也顯示，種間雜種 F_1 栽培於田間之生殖效率比栽培於溫室者為高。郭（1998）指出種間雜種在田間栽培環境下之生殖效率較栽培於溫室者為高，主要因素為溫室中的溫度過高不利花生開花、結莢。Emery（1983）探討光週期對栽培種及雜交種落花生開花及結莢之影響，顯示在長日處理下植株的營養生長旺盛，開花數較多，但所形成之子房柄及莢果數卻明顯低於短日處理。唐（1994）指出栽種於大陸的花生三倍性雜種一年開花量很大，但上半年的花很少形成子房柄，七月底後形成的子房柄逐漸增多；一般八、九月間形成的子房柄較能形成莢果，乃因三倍性雜種結實需短日照，在日照時數漸減的情況下才能形成子房柄，且須一定的積溫和發育時間才能形成莢果。本試驗 TNS9 x *A. villosa* 之雜種與春季所形成之子房柄數平均高達 30.11 個，但其莢果數僅 0.89 個，主要原因為春作於八月底收穫，子房柄

並無足夠發育時間；至於秋作結莢低落之原因可能與積溫不足有關。

Amir 早在 1969 年即發現 GA_3 可促進落花生子房柄之伸長。 Sastri 和 Moss(1982) 在 *A. monticola* 與 Rhizomatosae 節之 *A. sp.* 雜交時,發現利用 GA 及 kinetin 處理可促進種間雜交子房柄生長。Moss 和 Stalker (1987) 、周等(1994)及溫等(1999) 亦均相繼指出， 88 或 100ppm GA_3 可促進種間雜交後的花粉發芽、子房柄形成及結莢。Shushu 和 Cutter(1990a, b)指出 GA_3 可促進子房柄中間分生組織活化，使細胞伸長。Stalker 等(1987)則發現 GA_3 雖可促進子房柄的形成，但對結莢及胚發育無顯著的促進效果。由本試驗結果則顯示 GA_3 處理對種間雜種的子房形成也有顯住的促進效果，唯仍有許多子房柄無法形成莢果。雖然花生莢果及胚的生長發育須許多物理因子及植物生長素參與(Zamski and Ziv, 1976)，但形成子房柄為胚珠繼續發育為莢果及獲得種子的先決步驟(Smith, 1956a, b; Stalker *et al.*, 1987)。另一方面, Sastri 和 Moss(1982) 及周等(1994)發現噴施 GA、IAA 及 Kinetin 等與子房柄伸長及胚發育有關之植物荷爾蒙可促進胚珠發育及子房柄伸長，進而獲得雜交種子，為拯救不親和雜交組合獲得大量種子的可行途徑,值得進一步研究。

參 考 文 獻

周蓉、瞿禎、段乃雄、吳新鏞。1994。植物激素對克服花生種間雜交不親和性作用的研究。中國油料 16(2): 4-6。

成游貴、羅國棟。1987。狼尾草二倍體花粉形成及其細胞學之研究。畜產研究 20 (2): 91-107。

沈再木。1994。數種種間雜澆種百合細胞減數分裂行為花粉稔性及 2N 花粉形成之研究。嘉義農專學報 36：45-53。

洪崇文。1998。栽培種落花生自交與種間雜交子房柄之體外培養。國立中興大學農藝學系碩士論文。

周蓉、瞿禎、段乃雄、吳新鏞。1994。植物激素對克服花生種間雜交不親和性作用的研究。中國油料。 16 (2)：4-6。

郭麗君。1998。落花生栽培種與野生種種間雜種的扦插繁殖及其生殖特性。國立中興大學農藝學系碩士論文。

黃蕙娟、曾文隆、楊金興、蔡志濃。1996。引進落花生野生種原之特性評估。中華農業研究。45 (1)：15-25。

黃興東、賴光隆。1985。溫度對落花生開花及受精之影響。科學農業 33：290-294。

唐榮華、周漢群、蔡驥業。1994。花生哉野種間雜交研究 I.三倍體雜種自然加倍在花生育種上的應用。廣西農業科學 1：5-8。

溫英源、胡澤寬、葉茂生。1999。GA_3 對落花生種間雜交子房柄形成伸長之影響。中華農藝 9：153-160。

Amir,J.1969.A study on the reproductive stage of the groundnut, *Arachis hypogaea*, induction of pod setting in the upper gynophores. Ann. Bot. 33:333-338.

Bajaj, Y.P.S., M. M. Singh, and K. S. Labana.1982. Interspecific hybridization in the genus *Arachis* through embryo culture. Euphytica. 31:365-370.

Chen, C., D. A. Sleper, S. Chao, G. S. Johal, and C. P. West. 1997. RFLP detection of 2n pollen formation by first and second division restitution in perennial ryegrass. Crop Sci. 37:76-80.

Den Nus, T. P. M., and S. J. Peloquin. 1977. Polyploid evolution via 2n gametes. Am. Bot. J. 54:377-386.

Emery, D. 1983.Reproductive efficiency of cultivated peanuts. V. Response of parental and Virginia (NC 4) × Spanish (C2) hybrid families to changes in photoperiod. Peanut Sci. 10:8-12.

Gardner, M. E. V., and H. T. Stalker. 1983. Cytology and leafspot resistance of section *Arachis* amphidiploids and their hybrids with *Arachis hypogaea*. Crop Sci. 23-1069-1074.

Guok, H. P., J. C. Wynne, and H. T. Stalker. 1986. Recurrent selection within a population from an interspecific peanut cross. Crop Sci. 26:249-253.

Halward, H. M., and H. T. Stalker. 1987a. Comparison of embryo development in wild and cultivated *Arachis* species. Ann. Bot. 19:9-14.

Halward, H. M., and H. T. Stalker. 1987b. Incompatibility mechanisms in interspecific peanut hybrids. Crop Sci. 27:456-460.

Harlan, J. R., and J. M. J. deWest. 1975. On O. Winage and a prayey: The origins of polyploidy. Bot. Rev. 41:361-390.

Harlan, J. R. 1976. Genetic resources in wild relatives of crops. Crop Sci. 16:329-33.

Jongedijk, E., M. S. Ramanna, Z. Sawor, and J. G. Th. Hermen. 1991a. Formation in first division restitution (FDR) 2n-megaspores through pseudohomotypic division in *ds-1* (desynapsis) mutants of diploid potato: routine production of tetraploid progeny from 2xFDR × 2xFDR crosses. Theor. Appl.Genet. 82:645-656.

Jongedijk, E.,R..C. B. Hutten and J.M.S.A. van der Wolk. 1991b. Synaptic mutants in potato, Solanum tuberosum L.Ⅲ.Effect of the Ds-1/ds-1 locus (desynapsis) on genetic recombination in male and female meiosis. Genome. 34:121-130

Moss, J. P., and H. T. Stalker. 1987. Embryo rescue in wide crosses in *Arachis*. 3. *In vitro* culture of peg tips of *A. hypogaea* selfs and interspecific hybrids. Peanut sci. 14(2):70-74.

Ozias-Akins, P., and C. Singsit, and W. D. Branch. 1992. Interspecific hybrid inviability in crosses of *Arachis hypogaea* × *A. stenosperma* can be overcome by in vitro embryo maturation or somatic embryogenesis. Plant Physiol. 140:207-212.

Oritiz,. R., and S. J. Peloquin, 1994. Effect of sporphytic heterozygosity on the male gametophyte of the tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) Ann. J. Bot. 73:61-64.

Ortiz, R. 1997. Occurrence and inheritance of 2n pollen in *Musa*. Ann. Bot. 79:449-453.

Sastri, D. C., and J. P. Moss. 1982. Effects of growth regulator on incompatible crosses in the genus *Arachis* L. J. Exp. Bot. 33:1293-1301.

Shuahu,D.D. and E.G.Cutter.1990a. Growth of the gynophore of the peanut *Arachis hypogaea*. I. Intact and decapitated gynophores. Can. J. Bot. 68：955-964.

Shuahu,D.D. and E.G.Cutter.1990b. Growth of the gynophore of the peanut *Arachis hypogaea*. 2. Regulation of growth. Can. J. Bot. 68：965-978.

Simpson, C. E., and K. S. Davis. 1983. Meiotic behavior of a male-fertile triploid *Arachis* L. hybrid. Crop Sci. 581-584.

Simpson, C. E. 1991. Pathways for introgression of pest resistance into *Arachis hypogaea* L. Peanut Sci. 18:22-26.

Singh, A. K., and J. P. Moss. 1984a. Utilization of wild relatives in genetic improvement of *Arachis. hypogaea* L. 5. Genome analysis in section *Arachis* and its implications in gene transfer. Theor. Appl. Genet. 68:355-367.

Singh, A. K., and J. P. Moss 1984b. Utilization of wild relatives in genetic improvement of *Arachis hypogaea* L. VI. Fertility in triploids: Cytological basis and breeding implications. Peanut Sci. 11:17-21.

Smartt, J., and W. C. Gregory. 1967. Interspecific cross-compatibility between the cultivated peanut *Arachis hypogaea* L. and other members of the genus *Arachis*. Oleagineux 22:455-459.

Smartt, J., W. C. Gregory, and M. P. Gregory. 1978a. The genomes of *Arachis hypogaea* L. 1. Cytogenetic studies of putative genome donors. Euphytica 27:655-675.

Smith, B. W. 1956a. *Arachis hypogaea*. Normal megasporogenesis and syngamy with occasional single fertilization. Am. J. Bot. 37:802-815.

Smith, B.W.1956b. *Arachis hypogaea*. Embryogeny and the effect of peg elongation upon embryo and endosperm growth.Am. J. Bot.43:233-240.

Stalker, H. T. 1984. Utilizing *Arachis cardenasii* as a source of *Cercospora* leafspot resistance for peanut improvement. Euphytica 33:529-538.

Stalker, H. T., and R. D. Dalmacio. 1981. Chromosomes of *Arachis* species, section *Arachis*. J. Hered. 72:403-408.

Stalker, H. T., and J. P. Moss. 1987. Speciation, cytogenetics, and utilization of *Arachis* species. Adv. In Agron. 41:1-40.

Stalker,H.T.,M.H.Seitz and P.Reece.1987.Effect of gibberellic acid on pegging and seed set of *Arachis* species.Peanut Sci. 14:21-25.

Stalker, H. T., and J. C. Wynne. 1979. Cytology of interspecific hybrids in section *Arachis* of peanuts. Peanut Sci. 6:110-114.

Stalker, H. T., and J. C. Wynne. 1982. Photoperiodic response of peanut species. Peanut Sci. 10:59-62.

Tavoletti, S., A. Mariani, and F. Veronesi. 1991. Cytological analysis of macro- and microsporogenesis of a diploid alfalfa clone producing male and female 2n gametes. Crop Sci. 31:1258-1263.

Zamski,E. and M.Ziv. 1976. Pod formation and its geotropic orientation in the peanut, *Arachis hypogaea* L., in relation to light and mechanical stimulus. Ann. Bot. 40：631-636.